

特 許 協 力 条 約

P C T

特許性に関する国際予備報告（特許協力条約第二章）

（法第 12 条、法施行規則第 56 条）

〔P C T 36 条及び P C T 規則 70〕

出願人又は代理人 の書類記号 P028P08PCT	今後の手続きについては、様式 P C T / I P E A / 4 1 6 を参照すること。	
国際出願番号 P C T / J P 2 0 0 5 / 0 0 3 2 2 0	国際出願日 (日. 月. 年) 1 8 . 0 2 . 2 0 0 5	優先日 (日. 月. 年) 1 8 . 0 2 . 2 0 0 4
国際特許分類 (I P C) Int.Cl. C07H15/04(2006. 01), C07D339/04(2006. 01), G01N27/62(2006. 01), G01N33/547(2006. 01)		
出願人 (氏名又は名称) 独立行政法人科学技術振興機構		

1. この報告書は、P C T 35 条に基づきこの国際予備審査機関で作成された国際予備審査報告である。 法施行規則第 57 条 (P C T 36 条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。
3. この報告には次の附属物件も添付されている。 a. <input checked="" type="checkbox"/> 附属書類は全部で 1 0 ページである。 <input checked="" type="checkbox"/> 補正されて、この報告の基礎とされた及び／又はこの国際予備審査機関が認めた訂正を含む明細書、請求の範囲及び／又は図面の用紙 (P C T 規則 70. 16 及び実施細則第 607 号参照) <input type="checkbox"/> 第 I 欄 4. 及び補充欄に示したように、出願時における国際出願の開示の範囲を超えた補正を含むものとこの国際予備審査機関が認定した差替え用紙 b. <input type="checkbox"/> 電子媒体は全部で (電子媒体の種類、数を示す)。 配列表に関する補充欄に示すように、電子形式による配列表又は配列表に関連するテーブルを含む。 (実施細則第 802 号参照)
4. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。 <input checked="" type="checkbox"/> 第 I 欄 国際予備審査報告の基礎 <input type="checkbox"/> 第 II 欄 優先権 <input type="checkbox"/> 第 III 欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 <input type="checkbox"/> 第 IV 欄 発明の単一性の欠如 <input checked="" type="checkbox"/> 第 V 欄 P C T 35 条 (2) に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 <input type="checkbox"/> 第 VI 欄 ある種の引用文献 <input type="checkbox"/> 第 VII 欄 国際出願の不備 <input type="checkbox"/> 第 VIII 欄 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 1 6 . 1 2 . 2 0 0 5	国際予備審査報告を作成した日 0 3 . 0 7 . 2 0 0 6		
名称及びあて先 日本国特許庁 (I P E A / J P) 郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5 東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号	特許庁審査官 (権限のある職員) 大宅 郁治	4 C	8 8 2 9
	電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 2		

様式 P C T / I P E A / 4 0 9 (表紙) (2 0 0 5 年 4 月)

第 I 欄 報告の基礎

1. 言語に関し、この予備審査報告は以下のものを基礎とした。

- ☒ 出願時の言語による国際出願
- ☐ 出願時の言語から次の目的のための言語である _____ 語に翻訳された、この国際出願の翻訳文
- ☐ 国際調査 (PCT規則12.3(a)及び23.1(b))
- ☐ 国際公開 (PCT規則12.4(a))
- ☐ 国際予備審査 (PCT規則55.2(a)又は55.3(a))

2. この報告は下記の出願書類を基礎とした。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差替え用紙は、この報告において「出願時」とし、この報告に添付していない。)

☐ 出願時の国際出願書類

☒ 明細書

第 1~17、19~64、66~69、71~86 _____ ページ、出願時に提出されたもの

第 18、65、70 _____ ページ*、16.12.2005 付けで国際予備審査機関が受理したもの

第 _____ ページ*、_____ 付けで国際予備審査機関が受理したもの

☒ 請求の範囲

第 2、6、9 _____ 項、出願時に提出されたもの

第 _____ 項*、PCT19条の規定に基づき補正されたもの

第 3~5、7、8、10 _____ 項*、16.12.2005 付けで国際予備審査機関が受理したもの

第 1 _____ 項*、11.05.2006 付けで国際予備審査機関が受理したもの

☒ 図面

第 1~23 _____ ページ/図、出願時に提出されたもの

第 _____ ページ/図*、_____ 付けで国際予備審査機関が受理したもの

第 _____ ページ/図*、_____ 付けで国際予備審査機関が受理したもの

☐ 配列表又は関連するテーブル

配列表に関する補充欄を参照すること。

3. ☐ 補正により、下記の書類が削除された。

☐ 明細書 第 _____ ページ

☐ 請求の範囲 第 _____ 項

☐ 図面 第 _____ ページ/図

☐ 配列表 (具体的に記載すること) _____

☐ 配列表に関連するテーブル (具体的に記載すること) _____

4. ☐ この報告は、補充欄に示したように、この報告に添付されかつ以下に示した補正が出願時における開示の範囲を超えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

☐ 明細書 第 _____ ページ

☐ 請求の範囲 第 _____ 項

☐ 図面 第 _____ ページ/図

☐ 配列表 (具体的に記載すること) _____

☐ 配列表に関連するテーブル (具体的に記載すること) _____

* 4. に該当する場合、その用紙に“superseded”と記入されることがある。

第Ⅴ欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性（N）	請求の範囲 1～10	有
	請求の範囲	無
進歩性（IS）	請求の範囲	有
	請求の範囲 1～10	無
産業上の利用可能性（IA）	請求の範囲 1～10	有
	請求の範囲	無

2. 文献及び説明（PCT規則70.7）

文献

文献1：JP 2003-83969 A（科学技術振興事業団）2003.03.19

文献2：JP 11-512518 A（ファルマシア バイオセンサー m、アーバー）1999.10.26
& WO 97/09608 A1 & US 5955729 A & EP 850407 A1

説明

文献1には、糖類を表面プラズモン共鳴のセンサチップ等各種蛋白質分析用の支持体に一段階で導入し固定することが可能なリンカー化合物、及び、該リンカー化合物を用いたリガンド、並びに、該リガンドを表面に固定化させてなる蛋白質分析用の支持体が記載されており、この国際出願に係る発明は、糖類の種類において文献1に記載された発明と相違する。しかし、本願発明において使用する還元末端を有する糖類は周知のものであり、また、文献1においても、芳香族アミノ基（リンカー化合物の一部）と結合する糖類は還元末端を有する糖であるグルコースであることから、文献1に記載の糖類として周知の還元末端を有する糖類を使用することは当業者であれば格別の創意を要する事項とは認められず、請求の範囲1～9に係る発明は進歩性を有していない。

また、表面プラズモン共鳴の測定後に質量分析を行う点は文献2に記載されているので、請求の範囲10に係る発明も進歩性を有していない。

上記一般式（8）にて表される構造を有するリンカー化合物とは、つまり、炭化水素誘導鎖を2鎖有するものであり、末端に芳香族アミノ基を有する2鎖の炭化水素誘導鎖が、1つの窒素（N）に結合することによって分岐構造を形成している。なお、上記一般式（8）において、 m^4 , m^5 は、0以上6以下の整数であれば限定されず、 n^1 は1以上6以下の整数であれば限定されず、互いに異なる整数であってもよく、一部あるいは全てが同じ整数であってもよい。このうち、上記 m^4 , m^5 は、製造時の簡便さの点から互いに同じ整数であることが好ましく、特に2であることが好ましい。

10 上記一般式（9）にて表される構造を有するリンカー化合物は、炭化水素誘導鎖を1鎖有するものである。なお、上記一般式（9）において、 n^1 , q は、0以上6以下の整数であれば限定されず、互いに異なる整数であってもよく、同じ整数であってもよい。

15 上記一般式（10）にて表される構造を有するリンカー化合物は、炭化水素誘導鎖を1鎖有するものである。なお、上記一般式（10）において、 n^2 は、1以上6以下の整数であれば限定されない。

上記一般式（11）にて表される構造を有するリンカー化合物は、炭化水素誘導鎖を1鎖有するものが2量体を形成したものである。なお、上記一般式（11）において、 n^1 は、1以上6以下の整数であれば限定されない。

20 上記一般式（7）または一般式（8）のように、上記Xは、炭素や窒素等の原子にて、上記炭化水素誘導鎖を複数結合して分岐構造を形成している多分岐型部位である構造を備えているものでもよい。なお、上記Xに複数の炭化水素誘導鎖が含まれる場合は、すべて同じであることが好ましいが、末端に芳香族アミノ基を有していれば、互いに異なる構造

25

て得た。

この化合物 16 について $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz , CDCl_3)
 測定を行ったところ、 δ 6.19 (1H, bs, CO_2H), 4.16 (2H, s, $\text{OCH}_2\text{CO}_2\text{H}$)
 , 3.75-3.64 (12H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.68 (2H, m, $\text{N}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.41 (2H,
 5 t, $J = 5.1\text{ Hz}$, N_3CH_2)であった。また、上記化合物 16 の ESI-M
 S (negative) 測定を行ったところ、 m/z 328.14 $[(\text{M}+\text{Na})^-]$ であった。
 これによって化合物 16 の構造を確認することができた。なお、この化
 合物 16 の分子質量は 277.13 である。

(2) 化合物 17 の合成

10 化合物 16 (228 mg, 0.823 mmol) を無水ジクロロメタン (4 ml) に溶
 解し、室温、HOBt (135 mg, 0.987 mmol)、EDC·HCl (192 mg, 0.987
 mmol)、化合物 11 (205 mg, 0.987 mmol) を 0°C で順に加え、遮光下 2
 0 時間攪拌した。この反応溶液を減圧濃縮して得られた濃縮残渣をクロ
 ロホルムで抽出し、有機層を 10% クエン酸、飽和炭酸水素ナトリウム水
 15 溶液で 1 回ずつ洗浄して、乾燥剤として無水硫酸マグネシウムを用いて
 乾燥させた後、乾燥剤を濾去して減圧濃縮を行った。減圧濃縮によって
 得られた濃縮残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (80 g, クロロホル
 ム : メタノール = 10 : 1) で精製して、化合物 17 (367 mg, 収率 : 95
 %) を黄色オイル状物質として得た。この化合物 17 の ESI-MS (p
 20 ositive) 測定を行ったところ、 m/z 490.24 $[(\text{M}+\text{Na})^+]$ であった。これ
 によって化合物 17 の構造を確認することができた。なお、この化合物
 17 の分子質量は 467.24 である。

(3) 化合物 18 の合成

化合物 17 (29 mg, 0.062 mmol) をメタノール (3 ml) に溶解し、1
 25 0% Pd/C (5.0 mg) を加え、水素雰囲気下、室温で 9 時間攪拌した。上

70

-NHCOCH₂CH₂-), 1.76-1.69 (m, 1H, -SCH₂CH₂(1H)-), 1.52-1.31 (m
 4H, -COCH₂CH₂CH₂CH₂-), 1.18-1.10 (m, 2H, -COCH₂CH₂CH₂CH₂-)であつ
 た。MALDI-TOF-MS測定を行ったところ、m/z 878.39 [(M+Na)⁺]であつた。
 5 の化合物22の分子質量は855.35である。

〔実施例4：リガンド複合体（化合物26、27）の合成〕

本実施例では、実施の形態において説明した7番目および8番目のリ
 ガンド複合体に分類されるリガンド複合体を合成した。すなわち、7番
 目のリガンド複合体の一つである上記一般式(14)にて表される構造
 10 においてn¹が3であり、上記Xが一般式(4)にて表される構造を備
 え、R'が水素(H)であり、Rにグルコースが導入された構造を有す
 るリガンド複合体（化合物26）、および、8番目のリガンド複合体の
 一つである上記一般式(14)にて表される構造においてn¹が3であ
 り、上記Xが一般式(4)にて表される構造を備え、R'が水素(H)
 15 であり、Rにマルトースが導入された構造を有するリガンド複合体（化
 合物26）を以下の手順で合成した。

なお、測定方法、試薬等については、上記実施例3に記載のものと同
 じである。

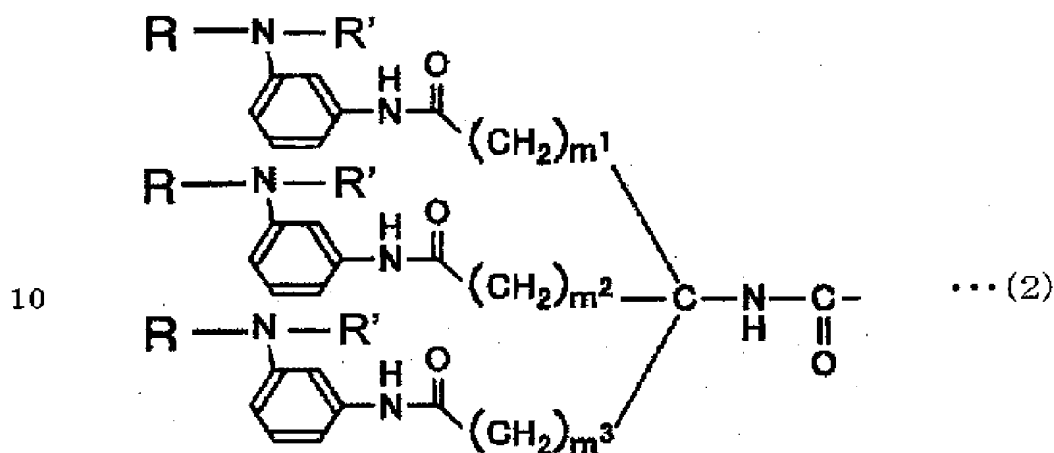
(1) 化合物24の合成

20 以下、式(32)にしたがって説明する。

から選択される糖鎖とが、上記芳香族アミノ基を介して結合している構造を有していることを特徴とするリガンド複合体。

2. 上記 Y は、S-S 結合または S-H 基を含む炭化水素構造であることを特徴とする請求項 1 に記載のリガンド複合体。

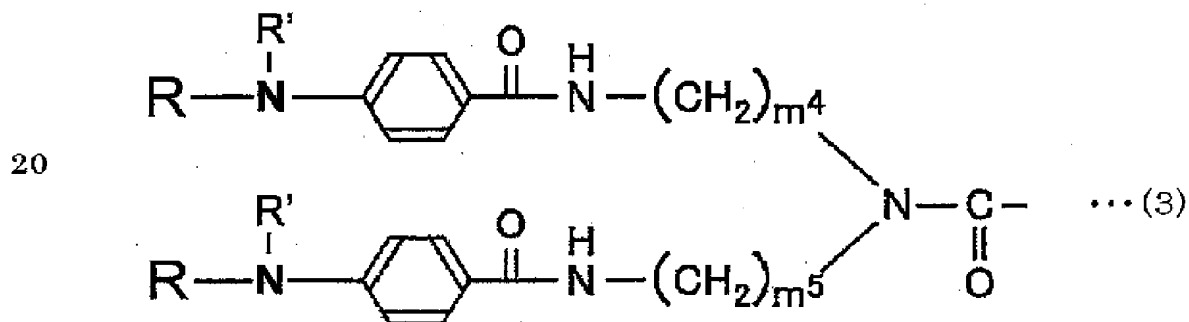
5 3. (補正後) 上記 X は、一般式 (2)



(式中、 m^1 , m^2 , m^3 はそれぞれ独立して 0 以上 6 以下の整数。R' は水素 (H) または R。) にて表される構造を備え、

15 上記 R は上記群 (101) から選択される糖鎖由来化合物であることを特徴とする請求項 1 または 2 に記載のリガンド複合体。

4. (補正後) 上記 X は、一般式 (3)

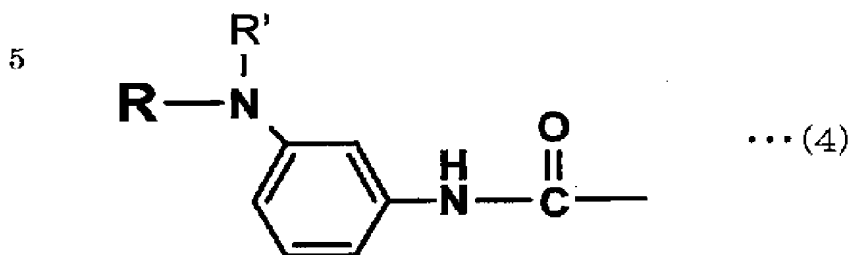


25 (式中、 m^4 , m^5 はそれぞれ独立して 0 以上 6 以下の整数。R' は水素 (H) または R。) にて表される構造を備え、

90

上記 R は上記群 (101) から選択される糖鎖由来化合物であることを
 を特徴とする請求項 1 または 2 に記載のリガンド複合体。

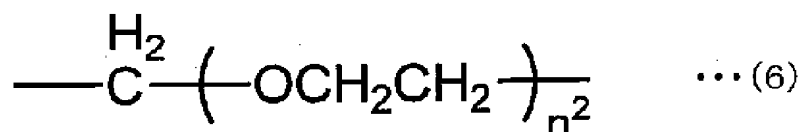
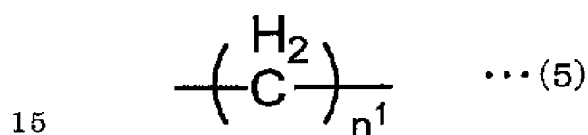
5. (補正後) 上記 X は、一般式 (4)



(式中、R' は水素 (H) または R) にて表される構造を備え、

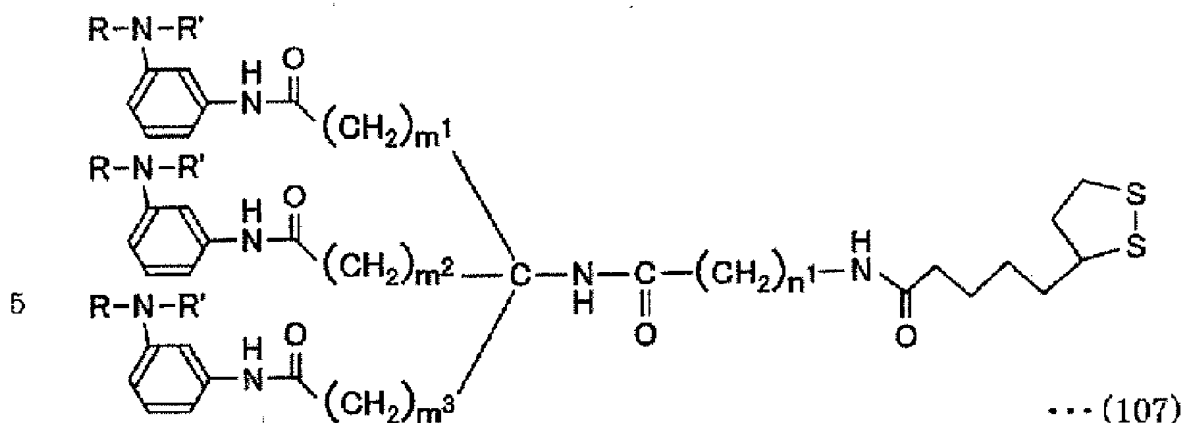
10 上記 R は上記群 (101) から選択される糖鎖由来化合物であることを
 を特徴とする請求項 1 または 2 に記載のリガンド複合体。

6. 上記 Z は、式 (5) または式 (6)



20 (式中、 n^1 , n^2 はそれぞれ 1 以上 6 以下の整数) にて表される構造を
 備えていることを特徴とする請求項 1 または 2 に記載のリガンド複合体
 。

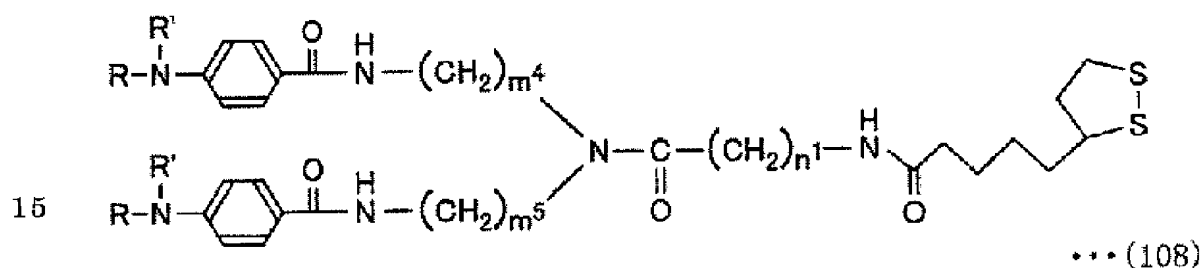
7. (補正後) 一般式 (107)



(式中、 m^1 , m^2 , m^3 はそれぞれ独立して0以上6以下の整数、 n^1 は1以上6以下の整数。 R' は水素(H)またはR。)にて表される構造

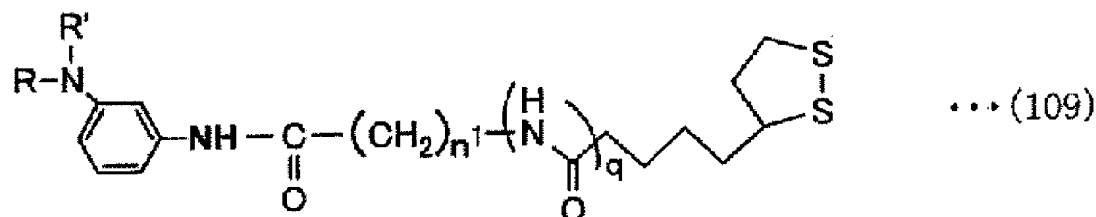
10 、または、

一般式 (108)



(式中、 m^4 , m^5 はそれぞれ独立して0以上6以下の整数、 n^1 は1以上6以下の整数。 R' は水素(H)またはR。)にて表される構造、または、

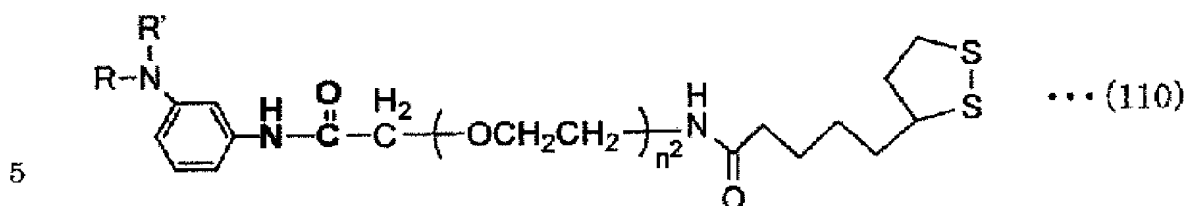
20 一般式 (109)



25 (式中、 n^1 , q はそれぞれ独立して0以上6以下の整数。 R' は水素

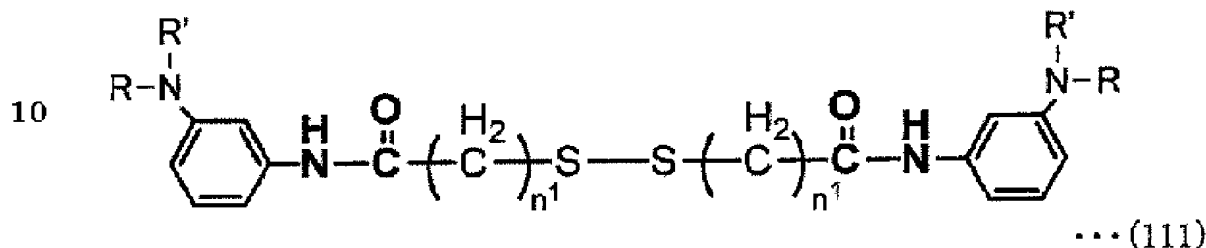
(H) または R。) にて表される構造、または、

一般式 (110)



(式中、 n^2 は 1 以上 6 以下の整数。R' は水素 (H) または R。) にて表される構造、または、

一般式 (111)



(式中、 n^1 は 1 以上 6 以下の整数。R' は水素 (H) または R。) にて表される構造を備え、

15 上記 R は上記群 (101) から選択される糖鎖由来化合物であることを特徴とする請求項 1 に記載のリガンド複合体。

8. (補正後) 請求項 1 ないし 7 の何れか 1 項に記載のリガンド複合体を、表面に金属を有する支持体上に固定化させてなることを特徴とするリガンド担持体。

20 9. タンパク質の分析に使用されることを特徴とする請求項 8 に記載のリガンド担持体。

10. (補正後) 請求項 1 ないし 7 の何れか 1 項に記載のリガンド複合体を、支持体と接触させることによって、当該リガンド複合体を支持体上に固定化させたりガンド担持体を作成する工程と、

25 上記リガンド担持体を、タンパク質溶液と接触させた後、分子間相互

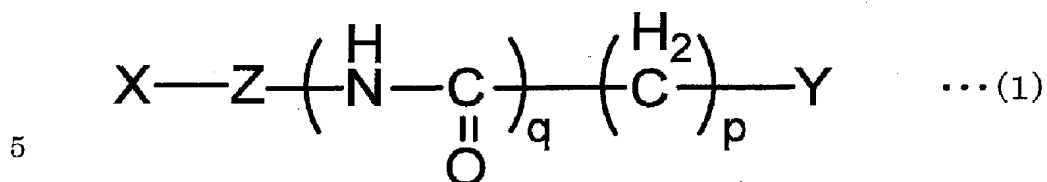
92/1

作用の測定を行う工程と、

上記分子間相互作用の測定の後に質量分析を行って、上記リガンド担
持体に結合しているタンパク質を同定する工程と、
からなることを特徴とするタンパク質の分析方法。

請求の範囲

1. (補正後) 一般式 (1)



(式中、p, q はそれぞれ独立して 0 以上 6 以下の整数) にて表される構造を備え、

上記 X として、末端に芳香族アミノ基を有するとともに、主鎖に炭素
 10 一窒素結合を有していてもよい炭化水素誘導鎖を、1 鎖又は 2 鎖又は 3
 鎖含んでなる構造を備え、上記 Y として、硫黄原子又は硫黄原子を含む
 炭化水素構造を備え、上記 Z として、炭素-炭素結合又は炭素-酸素結
 合を持つ直鎖構造を備えているリンカー化合物と、下記群 (101)

